Aus der Abteilung für Kiefer- und Plastische
Gesichtschirurgie im Universitätsklinikum Steglitz
des Fachbereichs Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Stellmach)

Ausscheidung und Organverteilung von ^{57}Co-Bleomycin und Therapieexperimente mit Bleomycin im Meerschweintumormodell

Inaugural-Disseratation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Olaf Michel
aus Bad Langensalza

1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549615_0050

Druck: Copy-Center in Dahlem
Ladenbergstraße 2-4
1000 Berlin 33
Tel. 831 40 25

Aus der Abteilung für Kiefer- und Plastische
Gesichtschirurgie im Universitätsklinikum Steglitz
des Fachbereichs Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Stellmach)

Ausscheidung und Organverteilung von ^{57}Co-Bleomycin und Therapieexperimente mit Bleomycin im Meerschweintumormodell

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Olaf Michel
aus Bad Langensalza

Referent: Prof. Dr. Dr. J. Bier

Korreferent: Prof. Dr. H. Meinhold

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 18. 7. 85

Für meine Eltern

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG.....6

2. MATERIAL UND METHODEN.....10

2.1. Tiere.....10
2.2. Tumor.....10
2.3. Bleomycin und Chemikalien.....11
2.4. Radioaktive Markierung von Bleomycin.....11
2.5. Galenische Zubereitung von Bleomycin.....12
2.5.1. Herstellung der wässrigen Injektionslösung..12
2.5.2. Herstellung der öligen Suspension.....12
2.5.3. Herstellung der Bleomycin- O/W - Emulsion...13
2.6. Radioaktivitätsmessung.....13
2.7. Statistik.....14

3. EXPERIMENTELLES VORGEHEN.....15

3.1. Tumorzellvermehrung und Tumorzelltransplantation...15
3.2. Bleomycinapplikation.....15
3.2.1. Intratumoral.....15
3.2.2. Intravenös.....16
3.3. Ausscheidungs- und Gewebeverteilungsexperimente....16
3.4. Therapieexperimente.....19

4. ERGEBNISSE.....21

4.1. ^{57}Co-Bleomycin-Ausscheidung.....21
4.2. ^{57}Cobalt-Bleomycin-Organverteilung.....29
4.3. Therapieexperimente.....41

5. DISKUSSION.....43

5.1. Ausscheidungsexperimente.....44
5.2. Organverteilungsexperimente.....46
5.3. Therapieexperimente.....52
5.4. Schlußbetrachtung.....54

6. ZUSAMMENFASSUNG.....56

7. LITERATURVERZEICHNIS.....57

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Bösartige Neubildungen sind heute in der Bundesrepublik Deutschland nach wie vor die häufigste Todesursache nach Herz- und Kreislauferkrankungen.

In der klinischen Onkologie hat sich neben den klassischen Methoden der Chirurgie und der Strahlentherapie seit 1940 die Chemotherapie einen festen Platz erobert.

Ein gegen Krebs wirkendes Arzneimittel sollte selektiv entartete Zellen schädigen und gesunde Zellen unbeschädigt lassen.

Leider greift aber eine Chemotherapie jedes sich teilende Gewebe an und hemmt dessen Wachstum. Eine gewisse Unterscheidung zwischen Tumor- und gesundem Gewebe ist oft nur durch die höhere Wachstumsrate und die schnellere Nucleoproteinsyntheseleistung der malignen Zellen gegeben.

Somit werden unter einer Chemotherapie immer gesunde Proliferationsgewebe wie hämatopoetisches System, Gonaden, Schleimhäute u. a. mitgeschädigt. Besonders die Schädigung der Knochenmarkszellen und die damit verbundenen suppressiven Auswirkungen auf das Immunsystem und die Blutbildung limitieren die Dosis und die Anwendungsdauer von Cytostatica.

Aus diesen Gründen wurde von unterschiedlichen Arbeitsgruppen versucht, unter Niedrighaltung der systemischen Belastung eine möglichst hohe Konzentration der Cytostatika am Wirkort zu erreichen. PILLAT (1960) berichtete dazu über die Heilung von Lidkarzinomen durch intratumorale Injektion von E 39. Außerdem wurden Versuche unternommen, Cytostatika

intraarteriell zu perfundieren (HUNTINGTON et al., 1973) oder auch intrapleural zu instillieren (PALADINE et al., 1976).

Neben der systemischen Toxizität erhält die Chemotherapie eine weitere Einschränkung dadurch, daß durch sie nur in Ausnahmefällen alle Tumorzellen abgetötet werden. Unabhängig von der Gesamttumormasse wird meist nur die Wachstumsfraktion, die bei menschlichen Tumoren oft kleiner ist als 50 % (SKIPPER et al., 1964), letal geschädigt. Die andere Fraktion der entarteten Zellen befindet sich überwiegend in der Ruhephase und wird durch die antineoplatischen Medikamente kaum angegriffen.

Außerdem wirkt sich die z. T. eingeschränkte Vaskularisation des Tumorgewebes, wie am Beispiel hochdifferenzierter Plattenepithelkarzinome im Kopf-Hals-Bereich aufgezeigt wurde (SCHMIDTSEDER und NOMA, 1977), negativ auf eine Cytostatikatherapie aus. Daher behandelte PFISTER (1971) epitheliale Hauttumore lokal mit Bleomycin, FETTIG et al. (1971) Plattenepithelkarzinome der Vulva und Cervix ebenfalls lokal mit Bleomycin, beide mit bemerkenswerten Ergebnissen.

Diese und andere Ergebnisse, sowie die weitverbreitete klinische Anwendung von Bleomycin als Cytostatikum veranlaßten BIER et al. (1979) zu einer systematischen tierexperimentellen Untersuchung. Dabei wurden Ausscheidung und Organverteilung von Bleomycin nach lokaler und systemischer Anwendung in tumortragenden und tumorfreien Mäusen geprüft.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Effekt von verschiedenen Bleomycin-Präparationen sowohl in kinetischer als auch in therapeutischer Hinsicht in einem syngenen Meerschweintumormodell zu prüfen.

1962 wurde Bleomycin erstmals von UMEZAWA et al. als Fermentationsprodukt von Streptomyces verticillus isoliert. Bleomycin steht damit in der Reihe der Phleomycin-verwandten Antibiotika und besteht aus einem Gemisch von Glykopeptiden, die jeweils aus einem Disaccharid und 6 Aminosäuren bestehen, wobei die endständigen Aminogruppen differieren (UMEZAWA, 1974).

In klinischen Studien wurde schon bald der hohe antineoplastische und antibakterielle Effekt von Bleomycin nachgewiesen, besonders die Wirksamkeit auf Plattenepithelkarzinome (ICHIKAWA et al., 1967).

Über die Wirkungsweise von Bleomycin auf maligne Zellen herrscht noch keine vollständige Klarheit; bisherige Forschungsergebnisse lassen jedoch eine Bindung oder Interaktion mit der DNA vermuten (KUNIMOTO et al., 1967; SUZUKI et al., 1968; NAGAI et al., 1969).

Tierexperimentelle Kinetikstudien für Bleomycin wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Methoden durchgeführt.

Anfangs wurden mikrobiologische Methoden (Agrardiffusionsmethode), bei denen die antibiotische Aktivität in verschiedenen Organen gemessen wurde (ISHIZUKA et al., 1967), angewendet, später wurde mit isotopenmarkiertem Bleomycin (^{3}H-BLM, ^{57}Co-BLM, ^{111}Ga-BLM, ^{99m}Tc-BLM, ^{111}In-BLM, ^{51}Cr-BLM) (UMEZAWA et al., 1968; GROVE et al., 1974; ROBBINS et al., 1974; HIGASHI et al., 1974; YEH et al., 1974; ZIMMERMANN und HALE, 1976) gearbeitet. BROUGHTON und STRONG beschrieben 1976 einen Radioimmunassay für Bleomycin mit ^{125}J-BLM.

ALBERTS et al. (1979) bestätigte die Aussagekraft des Gebrauchs von ^{57}Co-BLM zur Pharmakokinetik, BIER et al. (1979) bewies durch In-vitro und In-vivo Versuche am Tier die Zweckmäßigkeit der Anwendung von ^{57}Co-BLM für Organverteilungsstudien.

In der vorliegenden Arbeit sollte durch kinetische Experimente in Meerschweinen gezeigt werden, in wieweit sich mit verschiedenen galenischen Zubereitungsarten von Bleomycin (wässrige Lösung, ölige Suspension und Öl/Wasser-Emulsion) nach lokaler Gabe höhere Konzentrationen im Tumor und niedrigere Konzentrationen im übrigen Gewebe im Vergleich zur systemischen Cytostatikagabe erzielen lassen.

Durch Therapieexperimente sollte anschließend geprüft werden, wie die verschiedenen intratumoralen Applikationsarten im Vergleich zur systemischen Anwendung die Heilungsrate in einem syngenen Meerschweintumormodell beeinflussen.

Weiterhin sollte untersucht werden, ob die Therapieexperimente einen Zusammenhang mit den durch die kinetischen Experimente gewonnenen Ergebnissen erkennen lassen würden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiere

Alle Experimente wurden mit weiblichen Sewall Wright Inzuchtmeerschweinen Stamm 2 der Tierzuchtfarm Frederick, Cancer Research Center, Frederick, U.S.A., durchgeführt. Alle Tiere wogen bei einem durchschnittlichen Lebensalter von ca. 3 Monaten 450-500 g. Sie wurden zu fünft im Käfig gehalten und erhielten Wasser und Standardfutter ad libitum.

2.2. Tumor

Für alle Experimente wurden ausschließlich Linie 10 - Tumorzellen verwendet; Zellen eines Diäthylnitrosamin-induzierten hepatocellulären Karzinoms, die sich zu einem soliden Tumor entwickeln, sobald sie intradermal (id.) Stamm 2 Inzuchtmeerschweinen transplantiert werden. Dieser Tumor metastasiert fast ausschließlich lymphogen, nur im Finalstadium können vereinzelt hämatogene Lungenmetastasen beobachtet werden.

Die Zellen wurden von Dr. RAPP, Laboratory of Immunobiology, National Cancer Institute, Bethesda, U.S.A., freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

2.3. Bleomycin und Chemikalien

Lyophilisiertes Bleomycin-Sulfat (15 mg / Ampulle) wurde von der Fa. Heinrich Mack Nachf., Illertissen, Deutschland, bezogen.

Das Nährmedium für die L10-Tumorzellen wurde aus RPMI 1640 Medium (mit 2,0 g/l $NaHCO_3$, ohne Glutamin) und 10 % Fötalem Kälberserum (FCS) hergestellt. Alle für die Nährmedien benötigten Substanzen wurden von der Fa. SEROMED, München, Deutschland, bezogen.

Dimethylsulfoxid (DMSO) C_2H_6OS wurde von der Fa. MERCK, Darmstadt, Deutschland, bezogen und als Zusatz beim Einfrieren von Tumorzellen benutzt.

2.4. Radioaktive Markierung von Bleomycin

Lyophilisiertes Bleomycin-Sulfat (MACK, Illertissen, Deutschland; Ch.B.: 138 1179), entsprechend einer standardisierten biologischen Aktivität von 15 mg Bleomycin, wurde in 50 µl 0,9 %iger NaCl-Lösung gelöst und bei 22°C mit $^{57}CoCl_2$ in 0,5 m HCl inkubiert (100 µl = 170 µCi THOMAS PHILLIPS - DUPHAR, Düsseldorf, Deutschland; Ch.-B.: 330845). Mit Tris-Puffer (36,34 % THAM, BRAUN-MELSUNGEN, Ch.-B.: 033395) wurde ein pH = 6,5 eingestellt. Um ungebundenes $^{57}CoCl_2$ auszuschließen, das die Organverteilung durch eigene Kinetik beeinflußt hätte, wurde das markierte ^{57}Co-Bleomycin dünnschichtchromatographisch mit anschließender Messung im Dünnschichtscanner (BERTHOLD, Wildbad, Deutschland) überprüft. Dabei wurden Kieselgelplatten (60 F 154, MERCK, Darmstadt, Deutschland) mit 10 % Ammoniumacetat und Methanol (1:1) als Laufmittel benutzt. In allen Markierungen war mehr als 98 %

$^{57}Co^{++}$ am Bleomycin gebunden. Alle radioaktiv markierten Lösungen wurden sofort experimentell weiterverarbeitet.

2.5. Galenische Zubereitung von Bleomycin

2.5.1. Herstellung der wässrigen Injektionslösung

Im Ausscheidungs- und Gewebeverteilungsversuch wurde die wässrige Injektionslösung für die intravenöse und intratumorale Applikation durch Auffüllung der radioaktiv markierten Probe (150 µl, gepuffert) zu 1,2 ml mit 0,9 %iger NaCl-Lösung auf eine Konzentration von 1,25 mg/100 µl Injektionsvolumen (entsprechend 2,5 mg/kg Meerschweingewicht) gebracht.

Für den Therapieversuch wurden die wässrigen Lösungen entsprechend, jedoch ohne Markierung, mit lyophilisiertem Bleomycin-Sulfat hergestellt.

2.5.2. Herstellung der öligen Suspension

Um die Suspension (BOS: Bleomycin Oil Suspension) im Gewebeverteilungs- und Ausscheidungsversuch einzusetzen, wurde sie nach Angaben der Herstellerfirma (MACK, Illertissen, Deutschland) mit nach Markierung erneut gefriergetrocknetem ^{57}Co-Bleomycin-Sulfat hergestellt.

10 mg Aluminiummonostearat ($CH_3(CH_2)_{16}CoOAl(OH)_2$, FLUKA AG, Buchs, Schweiz; Ch.-B.: 2175 34980) wurden dazu in 1 ml Sesamöl (nach DAB 6, ROTH AG, Karlsruhe, Deutschland; Ch.-B.: 2 572 800) mit Hilfe eines Magnetrührers bei 120 °C gelöst. Nach 30 min wurde das gefriergetrocknete und pul-

verisierte ^{57}Co-Bleomycin-Sulfat hinzugegeben und 10 min im Ultraschallbad (Bandelin Sonorex RK 102, 240 W) suspendiert.

Für die Therapieexperimente wurde Bleomycin-Oil-Suspension (BOS, MACK, Illertissen, Deutschland; Ch.-B.: PH2003) mit einer Ausgangskonzentration von 15 mg/ml verwendet.

2.5.3. Herstellung der Bleomycin- Öl in Wasser (O/W) - Emulsion

Für die Verteilungsexperimente wurden 100 µl ^{57}Co- markiertes Bleomycin mit 700 µl 20 % O/W-Emulsion versetzt und bei 22°C für 15 sec auf einem Rüttler, anschließend für 10 min im Ultraschallbad (Bandelin Sonorex RK 102, 240 W) behandelt. Der Ölanteil betrug anschließend 17,5 %.

Für die Therapieexperimente wurden die Injektionslösungen in gleicher Weise hergestellt, nur daß die wässrige Lösung mit unterschiedlichen Mengen von unmarkiertem Bleomycinsulfat hergestellt wurden. Erreicht wurden in der Emulsion Bleomycin-Konzentrationen von 1,250 mg/ml bis 30 mg/ml, die in gleichen Injektionsvolumina von 100 µl verabreicht wurden.

2.6. Radioaktivitätsmessung

Die Ganzkörperaktivität wurde mit Hilfe eines Einkristall-NaJ-Scintillationszählers (Scan-Dent, Brüder-Bauer, Berlin; Bairo-Atomic, Analyser 2000, Berlin) unter definierten geometrischen Bedingungen gemessen. Der Wert direkt nach Injektion wurde mit 100 % gleichgesetzt.

Die Organaktivitäten wurden nach Bestimmung des Feuchtgewichtes der Organe mit Hilfe eines automatischen Gamma-Wechselzählers (BERTHOLD, Wildbad, Deutschland) gegen einen Standard gemessen, wobei die einzelnen Gewebeproben mit 2 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung in Plastikröhrchen gefüllt wurden.

Alle Werte wurden entsprechend der Hintergrundaktivität und der Halbwertszeit für $^{57}Co^{++}$ ($t_{1/2}$ = 270 Tage) bezogen auf die Injektionszeit korrigiert.

Die Ergebnisse sind als % injizierter Aktivität pro 1 % Körpergewicht angegeben.

2.7. Statistik

Die Ergebnisse wurden auf signifikante ($2 \alpha < 0,05$) Unterschiede mit dem Wilcoxon-Test, dem Exakten Fischer-Test und dem Chi-Quadrat-Test überprüft.

Ferner wurden die Medianwerte ($\tilde{x}$), die 20er (x_{20}) und der 80er (x_{80}) Percentilen (60 % - Interquantilbereich) bestimmt.

3. EXPERIMENTELLES VORGEHEN

3.1. Tumorzellvermehrung und Tumorzelltransplantation

2 ml Linie-10 Zellen wurden nach Vitalitätsprüfung durch Trypanblaufärbung in einer Konzentration von 1 x 10^6 Zellen/ml Stamm 2 - Meerschweinen intraperitoneal in Äthernarkose injiziert. Nach ca. 14 Tagen führt diese Implantation zu Ascites und den damit verbundenen klinischen Zeichen, außerdem zur Verlangsamung der Tiere und Struppigkeit des Felles. Durch Äthernarkose wurden die Tiere bei Auftreten der Symptome getötet, Exsudat und Tumorzellen durch Punktion gewonnen. Die Zellen wurden dreimal mit RPMI 1640 Nährmedium (GIBCO, Glasgow, Schottland) gewaschen und mit 300 g zentrifugiert, anschließend auf 1 x 10^6 Zellen pro 100 µl eingestellt.

Am Versuchstier wurden nach Rasur des Felles und Desinfektion der Haut mit einer Tuberkulinspritze 100 µl, entsprechend 1 x 10^6 Linie-10 Zellen, in die linke, bzw. rechte Flanke injiziert.

3.2. Bleomycinapplikation

3.2.1. Intratumoral

Die Injektionen am nicht narkotisiertem Tier erfolgten streng intratumoral mit einem jeweiligem Injektionsvolumen von 100 µl.

Im Ausscheidungs- und Gewebeverteilungsexperiment wurden 7, bzw. 14 Tage nach Tumortransplantation einmalig ^{57}Co-BLM in

drei verschiedenen galenischen Zubereitungen injiziert (wässrige Lösung, Suspension, Emulsion).

Im Therapieexperiment wurden beginnend am Tag 7 nach Tumortransplantation 3 Wochen lang jeweils 5 Tage pro Woche mit den verschiedenen Präparationen behandelt.

3.2.2. Intravenös

Im Ausscheidungs- und Verteilungsexperiment wurden einmalig am Tag 7 bzw. Tag 14 nach Tumortransplantation 100 µl ^{57}Co-BLM-Lösung nach Freilegung der V. iliaca in Narkose (ROMPUN^{R}, Bayer) injiziert.

Im Therapieexperiment wurden beginnend am Tag 7 nach Tumortransplantation 3 Wochen lang an 5 Tagen in der Woche mit je 100 µl wässriger BLM-Lösung therapiert. Die Injektion erfolgte über einen Verweilkatheter. Dieser wurde nach Freilegung und Unterbindung der V. jugularis implantiert. Nach jeder Injektion und mindestens zweimal täglich wurde der Katheter mit einer Heparinlösung (LIQUEMIN^{R}, Roche) gespült.

3.3. Ausscheidungs- und Gewebeverteilungsexperimente

Es wurden 8 Experimentalgruppen mit je 5 Meerschweinen gebildet, denen jeweils in die linke Flanke 1 x 10^{6} Zellen (100 µl) Linie-10 Tumor transplantiert wurden (Tag 0). Nach 7, bzw. 14 Tagen wurden jeweils 100 µl $^{57}Co^{++}$ markiertes Bleomycinsulfat in einer Konzentration von 2,5 mg/kg Körpergewicht jeweils 4 Gruppen injiziert (Tab. 1).

Die Ganzkörperaktivität wurde sofort nach Injektion und dann stündlich im Ganzkörperzähler bis zum 6-Stunden-Wert gemessen.

Daraufhin wurden die Tiere getötet, Blut und Organe (rechter und linker axillärer Lymphknoten, Tumor, Haut, Thymus, Lunge, Milz, Leber, Herz, Muskel, Niere, Darm, mesenterialer Lymphknoten) sofort entnommen, Feuchtgewicht und Aktivität bestimmt.

Tab. 1: Experimentalgruppen der Ausscheidungs- und Gewebeverteilungsexperimente

Gruppen-nummer	Tumor-alter	Zahl der Tiere	Injektions-volumen	Injektions-art	Galenische Bleomycin-Zubereitungs-art	Konzentration
1	Tag 7	5	100 µl	intravenös	wässrige ^{57}Co-BLM-Lösung	2,5 mg/kg KG
2	Tag 14	5	100 µl	intravenös	"	"
3	Tag 7	5	100 µl	intratumoral	wässrige ^{57}Co-BLM-Lösung	2,5 mg/kg KG
4	Tag 14	5	100 µl	intratumoral	"	"
5	Tag 7	5	100 µl	intratumoral	^{57}Co-BLM-Öl-Suspension	2,5 mg/kg KG
6	Tag 14	5	100 µl	intratumoral	"	"
7	Tag 7	5	100 µl	intratumoral	^{57}Co-BLM-Öl-Suspension	2,5 mg/kg KG
8	Tag 14	5	100 µl	intratumoral	"	"

3.4. Therapieexperimente

Die Therapieexperimente wurden wie die Gewebeverteilungs- und Ausscheidungsexperimente mit jeweils 5, bzw. 10, Stamm-2 Inzuchtmeerschweinen pro Versuchsgruppe durchgeführt.

Linie-10 tumortragende Tiere wurden 7 Tage nach Tumortransplantation mit Bleomycin in verschiedenen Verabreichungsarten intratumoral bzw. intravenös an 5 Tagen pro Woche über 3 Wochen behandelt.

Gruppe I wurde mit 0,5 mg/kg Körpergewicht wässriger Bleomycinlösung intratumoral behandelt.

Gruppe II wurde mit 2,5 mg/kg Körpergewicht wässriger Bleomycinlösung intratumoral behandelt.

Gruppe III wurde mit 2,5 mg/kg Körpergewicht wässriger Bleomycinlösung intravenös behandelt.

Gruppe IV wurde mit 0,5 mg/kg Körpergewicht wässriger Bleomycin-Öl-Suspension intratumoral behandelt (10 Tiere).

Gruppe V wurde mit 0,5 mg/kg Körpergewicht wässriger Bleomycin-O/W-Emulsion intratumoral behandelt (10 Tiere).

Gruppe VI diente als Kontrollgruppe und wurde mit steriler 0,9 %iger Kochsalzlösung intratumoral behandelt.

Von Beginn der Versuche wurden über die gesamte Versuchsdauer von 120 Tagen alle 3 Tage Tumordurchmesser, Durchmesser des drainierenden Lymphknotens und Gewicht der Tiere als

Verlaufskontrolle protokolliert. Als geheilt wurden Meerschweine bezeichnet, die nach 120 Tagen nach Tumortransplantation klinisch tumorfrei waren.

Unbehandelte Tiere starben ca. 50 - 55 Tage nach Tumortransplantation an fortgeschrittenem Tumorwachstum.

4. ERGEBNISSE

4.1. ^{57}Co-Bleomycin-Ausscheidung

In Tab. 2 und Abb. 1 sind das Ausscheidungsverhalten von ^{57}Co-Bleomycin in Meerschweinen mit 7 Tage altem Tumor aufgeführt bzw. dargestellt. ^{57}Co-Bleomycin wurde intravenös (iv.) wässrig, intratumoral (it.) wässrig, intratumoral als Öl-Suspension und intratumoral als O/W-Emulsion injiziert.

Nach 3 Stunden betrug die Aktivität der iv. wässrig behandelten Tiere 20,6 % der Ausgangsaktivität, der it. wässrig behandelten 22,8 %, der it. mit Öl-Suspension behandelten 46,3 % und der mit O/W-Emulsion behandelten Tiere 85,9 %.

Nach 6 Stunden wurde in den iv. wässrig behandelten Tieren 6,7 %, in den it. wässrig behandelten 14,4 %, in den it. mit Öl-Suspension behandelten 16,1 % und in den mit O/W-Emulsion behandelten Tieren 52,3 % der Anfängsaktivität gemessen.

Die Ganzkörperaktivität der Meerschweine nach Applikation von ^{57}Co-O/W-Emulsion war sowohl nach 3 Stunden als auch nach 6 Stunden signifikant ($2\alpha < 0{,}01$) höher als nach Gabe von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin intravenös und intratumoral und als nach Gabe von Öl-Suspension.

Tab. 2: Ganzkörper-Aktivität Tag 7 Linie-10 tumortragender Stamm-2 Meerschweine bei Applikation von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht nach iv. Injektion in wässriger Lösung und it. Injektion in wässriger Lösung, in Suspension und in O/W-Emulsion.[a]

Zeit nach Injektion	i.v. Wässrig	i.t. Wässrig	i.t. Suspension	i.t. Emulsion
0 h	100,0 %[b]	100,0 %	100,0 %	100,0 %
	100,0-100,0[c]	100,0-100,0	100,0-100,0	100,0-100,0
1 h	80,6 %	69,4 %	72,4 %	96,5 %
	72,4 - 82,5	63,4 - 84,1	70,0 - 75,6	94,1 - 98,2
2 h	36,9 %	28,0 %	69,3 %	92,4 %
	31,3 - 82,1	26,3 - 49,0	63,9 - 73,2	86,9 - 97,6
3 h	20,6 %	22,8 %	46,3 %	85,9 %
	13,3 - 31,6	20,7 - 27,2	41,3 - 61,1	85,0 - 89,9
4 h	9,1 %	19,4 %	31,6 %	85,5 %
	8,2 - 15,4	18,2 - 26,0	29,2 - 40,1	79,3 - 92,3
5 h	7,1 %	18,8 %	28,6 %	65,7 %
	4,9 - 12,4	16,9 - 24,7	28,5 - 28,8	63,7 - 69,8
6 h	6,7 %	14,4 %	16,1 %	52,5 %
	3,5 - 10,0	10,5 - 14,6	14,5 - 18,4	43,7 - 53,4

[a] Fünf Tiere pro Gruppe

[b] Medianwert ($\tilde{x}$) in Prozent der Ausgangsaktivität

[c] 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile (60 % - Interquantilbereich)

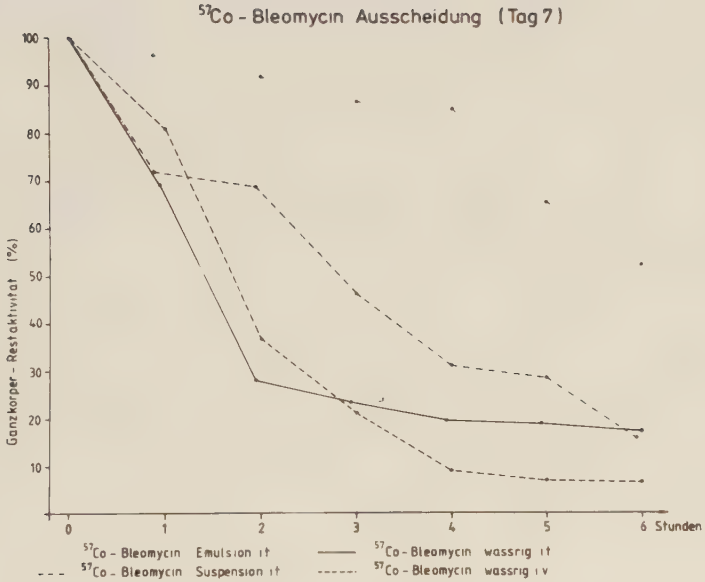

Abb. 1: Medianwerte der Ganzkörper-Restaktivitäten Tag 7 Linie-10 tumortragender Stamm-2 Meerschweine bei Applikation von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht nach iv. Injektion in wässriger Lösung und it. Injektion in wässriger Lösung, in Suspension und in O/W-Emulsion während 6 Stunden post injectionem.

In Tab. 3 und Abb. 2 sind das Ausscheidungsverhalten von ^{57}Co-Bleomycin in Meerschweinen mit 14 Tage alten Tumoren aufgeführt bzw. dargestellt. ^{57}Co-Bleomycin wurde intravenös wässrig, intratumoral wässrig, intratumoral als Öl-Suspension und intratumoral als O/W-Emulsion injiziert.

Nach 3 Stunden betrug die Ganzkörperaktivität der Tiere nach iv. wässriger Gabe 16,0 %, nach intratumoral wässriger Gabe 24,5 %, nach it. Gabe von Öl-Suspension 41,8 % und nach it. Gabe von O/W-Emulsion 78,2 % der Ausgangsaktivität.

Nach 6 Stunden wurde in den iv. wässrig behandelten Tieren 5,5 %, in den it. wässrig behandelten 13,1 %, in den it. mit Öl-Suspension 22,9 % und in den mit O/W-Emulsion behandelten Tieren 50,9 % der Ausgangsaktivtät gemessen.

Nach Applikation der ^{57}Co-Bleomycin-O/W-Emulsion lag die Ganzkörperaktivität sowohl nach 3 Stunden auch nach 6 Stunden signifikant ($2\alpha < 0{,}01$) höher als nach Applikation von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin iv. und it. und höher als nach Applikaton von it. Öl-Suspension.

Tab. 3: Ganzkörper-Aktivität Tag 14 Linie-10 tumortragender Stamm-2 Meerschweine bei Applikation von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht nach iv. Injektion in wässriger Lösung und it. Injektion in wässriger Lösung, in Suspension und in O/W-Emulsion.[a]

Zeit nach Injektion	i.v. Wässrig	i.t. Wässrig	i.t. Suspension	i.t. Emulsion
0 h	100,0 %[b]	100,0 %	100,0 %	100,0 %
	100,0-100,0[c]	100,0-100,0	100,0-100,0	100,0-100,0
1 h	97,4 %	87,9 %	70,9 %	85,7 %
	88,8 - 98,8	79,6 - 89,3	70,8 - 79,8	83,3 - 85,9
2 h	25,0 %	69,1 %	59,9 %	78,6 %
	21,8 - 87,2	31,4 - 81,5	51,4 - 62,7	68,0 - 84,2
3 h	16,0 %	24,5 %	49,8 %	78,2 %
	11,9 - 21,1	20,1 - 28,9	40,5 - 47,2	67,4 - 80,3
4 h	7,3 %	17,4 %	32,9 %	57,1 %
	6,6 - 7,6	14,9 - 18,9	29,0 - 33,0	52,2 - 62,2
5 h	6,5 %	16,1 %	29,6 %	49,8 %
	6,3 - 6,8	14,4 - 16,6	27,7 - 30,6	46,0 - 58,6
6 h	5,5 %	13,1 %	22,9 %	50,9 %
	4,9 - 5,6	10,8 - 15,0	19,7 - 23,6	34,9 - 55,4

[a] Fünf Tiere pro Gruppe

[b] Medianwert ($\tilde{x}$) in Prozent der Ausgangsaktivität

[c] 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile (60 % - Interquantilbereich)

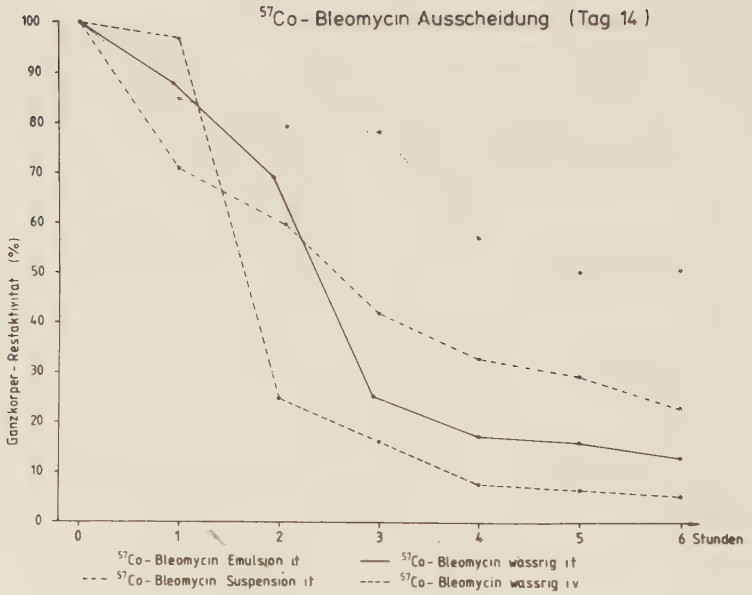

Abb. 2: Medianwerte der Ganzkörper-Restaktivitäten Tag 14 Linie-10 tumortragender Stamm-2 Meerschweine bei Applikation von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht nach iv. Injektion in wässriger Lösung und it. Injektion in wässriger Lösung, in Suspension und in O/W-Emulsion während 6 Stunden post injectionem.

In Tab. 4 sind die Integrale der Konzentrationszeitkurven von ^{57}Co-Bleomycin über 6 Stunden nach iv. wässriger, it. wässriger, it. Öl-Suspensions- und it. O/W-Emulsions-Gabe für 7 und 14 Tage alte Tumoren aufgeführt.

Nach intravenös wässriger Gabe von ^{57}Co-Bleomycin wurde an Tag 7 ein Absolutwert von 260,75, nach it. wässriger Gabe 274,00, nach it. Öl-Suspensions-Gabe 381,00 und nach it. Emulsions-Gabe ein Absolutwert von 626,75 erreicht.

An Tag 14 wurde nach iv. wässriger Gabe von ^{57}Co-Bleomycin ein Absolutwert von 255,75, nach it. wässriger Gabe 339,75, nach it. Öl-Suspensions-Gabe 370,25 und nach it. Emulsions-Gabe ein Absolutwert von 529,50 erreicht.

In den Absolutwerten der Integrale der Konzentrationszeitkurven zeigt sich die Abstufung der Ausscheidungsgeschwindigkeit wie folgt: am schnellsten wurde iv. wässrig verabreichtes ^{57}Co-Bleomycin ausgeschieden, gefolgt von it. wässrig verabreichten ^{57}Co-Bleomycin und it. verabreichter Öl-Suspension. Am langsamsten erfolgte die Ausscheidung von ^{57}Co-Bleomycin-Emulsion.

Tab. 4: Integrale der Ganzkörperaktivitäts-Zeitkurven über 6 Stunden in Tag 7 und Tag 14 Linie-10 tumortragenden Stamm-2 Meerschweinen nach Injektion von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin iv. in wässriger Lösung, it. in wässriger Lösung, in Suspension und in O/W-Emulsion.

	Tag 7	Tag 14
Intravenös wässrige Lösung	260,75[a]	255,75
Intratumoral wässrige Lösung	274,00	339,75
Intratumoral Suspension	381,00	370,25
Intratumoral Emulsion	626,75	529,50

[a] Absolutwerte der Flächeneinheiten im Koordinatensystem Ganzkörper-Restaktivität gegen Zeit.

4.2. ^{57}Cobalt-Bleomycin-Organverteilung

4.2.1. Meerschweine mit 7 Tage alten Tumor

Die Organverteilung für Tag 7 tumortragende Meerschweine 6 Stunden nach it. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion ist der nach iv. Injektion der wässrigen ^{57}Co-Bleomycin-Lösung gegenübergestellt (Tab. 5).

Im Tumor lagen die gemessenen Aktivitäten nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion signifikant ($2\alpha < 0{,}01$) höher als nach iv. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung.

Nach iv. Injektion wässrigen ^{57}Co-Bleomycins wurden die niedrigsten Aktivitäten gemessen. Sie lagen im Bereich von 0,3 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht. Nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung und öliger Suspension wurden Werte um 40 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht bestimmt, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen der wässrigen und der Suspensionsgabe nachgewiesen werden konnte. Die höchsten Werte im Tumor wurden nach it. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin-Emulsion gemessen. Sie lagen bei 243 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht und damit fast 790fach höher als nach iv. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin-Lösung (Tab. 6, Abb. 3).

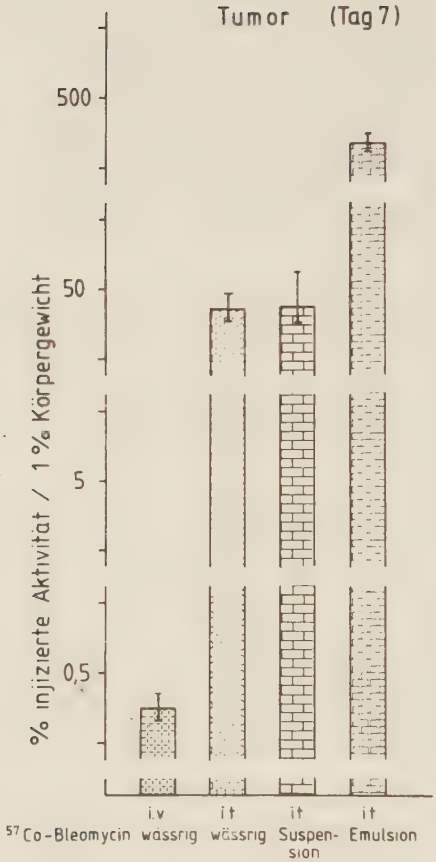

Abb. 3: ^{57}Co-Bleomycin Tumoraktivität 6 Stunden nach Applikation als iv. wässriges, it. wässriges, it. Suspensions- und it. Emulsions-^{57}Co-Bleomycin. Tumortiere: Stamm-2 Meerschweine mit 7 Tage alten intradermal wachsenden und bereits lymphogen metastasierenden Linie-10 Tumoren; 5 Tiere pro Gruppe.

Dargestellt sind jeweils 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile und der Medianwert ($\tilde{x}$).

In den drainierenden Lymphknoten (Ln. axillares) waren die gemessenen Werte nach it. Gabe von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion signifikant ($2\alpha < 0{,}01$) gegenüber der iv. Gabe wässrigen ^{57}Co-Bleomycins erhöht (Abb. 4).

Die niedrigsten Aktivitäten mit 0,1 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht wurden nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Gabe gemessen. Nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung betrug die Aktivität 1,2 %, nach it. Suspensionsapplikation 4,0 % und nach it. ^{57}Co-Bleomycin-Emulsions-Applikation 14,7 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht (Tab. 5).

Damit wurden im Vergleich zur iv. Gabe bei it. Verabreichung der wässrigen Lösung 12mal mehr, der Suspension 38mal mehr und nach Verabreichung der O/W-Emulsion 140mal mehr ^{57}Co-Bleomycin im drainierenden Lymphknoten gemessen (Tab. 6).

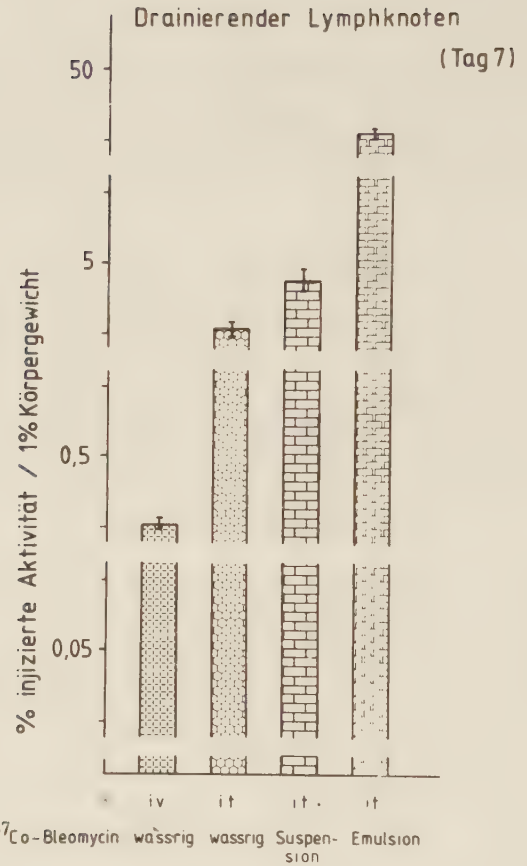

Abb. 4: ^{57}Co-Bleomycin Lymphknotenaktivität ipsilateral 6 Stunden nach Applikation als iv. wässriges, it. wässriges, it. Suspensions- und it. Emulsions-^{57}Co-Bleomycin.

Tumortiere: Stamm-2 Meerschweine mit 7 Tage alten intradermal wachsenden und bereits lymphogen metastasierenden Linie-10 Tumoren; 5 Tiere pro Gruppe.

Dargestellt sind jeweils 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile und der Medianwert ($\tilde{x}$).

Die gemessenen Aktivitäten für die übrigen Organe stellten sich nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion im Vergleich zur wässrigen iv. Verabreichung uneinheitlich dar (Tab. 5, Tab. 6).

Nach intratumoraler Gabe von wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Lösung wurden im Vergleich zur iv. wässrigen Applikation nur geringfügig höhere Werte in der Haut gemessen. Die Aktivitäten von Herz, Muskel und Blut unterschieden sich nicht signifikant. Die Werte des kontralateralen Lymphknotens, der Lunge, Milz, Leber, Niere und der mesenterialen Lymphknoten waren signifikant ($2\alpha < 0,05$) niedriger als bei iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Gabe.

Nach it. Gabe von ^{57}Co-Bleomycin-Suspension lagen die Aktivitäten von Haut, Thymus, Lunge, Milz, Herz, Muskel, Darm, mesenterialen Lymphknoten und Blut signifikant ($2\alpha < 0,05$) über den Aktivitäten der gleichen Organe nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Injektion. Annähernd gleiche Aktivitäten wurden in der Leber und in der Niere gemessen. Niedrigere Aktivitäten als nach iv. wässriger Applikation wurden in keinem Organ bestimmt.

Nach it. ^{57}Co-Bleomycin-Emulsions-Injektion lagen im Vergleich zur iv. wässrigen Injektion die Werte von Haut, Thymus, Milz, Herz, Muskel und Blut signifikant ($2\alpha < 0,05$) höher. Die ^{57}Co-Bleomycin-Konzentrationen unterschieden sich nicht signifikant für kontralateralen Lymphknoten, Lunge, Leber, Darm und mesenterialen Lymphknoten. In der Niere wurde signifikant ($2\alpha < 0,01$) weniger Aktivität im Vergleich mit der iv. wässrigen ^{57}Co-Bleomycin-Gabe gemessen (Tab. 5, Tab. 6).

Tab. 5: Organverteilung von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht in Stamm-2 Meerschweinen mit 7 Tage alten Linie 10-Tumor; 6 Stunden nach Injektion iv. in wässriger Lösung, it. in wässriger Lösung, Suspension und O/W Emulsion.[a]

Organe	i.v. Wässrig	i.t. Wässrig	i.t. Suspension	i.t. Emulsion
Lk ipsi	0,105[b]	1,265	4,046	14,740
	0,101-0,115[c]	0,979-1,650	3,570-4,567	12,600-15,030
Lk contra	0,121	0,049	2,285	0,220
	0,120-0,136	0,035-0,052	2,180-2,634	0,133-0,990
Tumor	0,308	38,543	40,493	243,120
	0,218-0,380	35,402-47,134	32,610-60,135	237,800-281,440
Haut	0,034	0,043	0,291	0,404
	0,032-0,048	0,043-0,070	0,283-0,345	0,203-0,553
Thymus	0,042	0,018	0,156	0,072
	0,024-0,043	0,014-0,022	0,138-0,233	0,069-0,140
Lunge	0,132	0,035	0,347	0,108
	0,101-0,133	0,035-0,038	0,318-0,353	0,077-0,114
Milz	0,084	0,033	0,273	0,483
	0,077-0,088	0,032-0,038	0,176-0,338	0,303-0,623
Leber	0,224	0,081	0,280	0,232
	0,038-0,462	0,076-0,087	0,164-0,307	0,190-0,266
Herz	0,026	0,021	0,108	0,048
	0,024-0,028	0,019-0,021	0,064-0,200	0,038-0,062
Muskel	0,006	0,008	0,084	0,019
	0,006-0,011	0,007-0,008	0,067-0,108	0,011-0,022
Niere	1,170	0,333	2,223	0,470
	0,775-1,499	0,327-0,373	1,115-2,328	0,458-0,475
Darm	0,050	0,025	0,208	0,041
	0,044-0,054	0,024-0,026	0,190-0,250	0,041-0,044
Lk.	0,071	0,021	0,930	0,088
mesenterial	0,055-0,082	0,017-0,026	0,500-1,232	0,065-0,296
Blut	0,020	0,019	0,217	0,055
	0,020-0,025	0,019-0,022	0,170-0,268	0,053-0,060

[a] Fünf Tiere pro Gruppe

[b] Medianwert ($\tilde{x}$) in Prozent der Ausgangsaktivität

[c] 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile (60 % - Interquantilbereich)

Tab. 6: Quotienten der Emulsion it., wässrig it., Suspension it. zu wässrig iv. - ^{57}Co-Bleomycin-Organkonzentrationen in Stamm-2 Meerschweinen mit 7 Tage altem Linie 10-Tumor

	I.t. wässrig: i.v. wässrig	I.t. Suspension: i.v. wässrig	I.t. Emulsion i.v. wässrig
Lk ipsi	12,04[a]	38,50	140,40
Lk contra	0,40	18,80	1,32
Tumor	125,10	131,40	789,35
Haut	1,30	8,50	11,88
Thymus	0,43	3,40	1,71
Lunge	0,26	2,60	0,82
Milz	0,39	3,25	5,75
Leber	0,36	1,25	1,04
Herz	0,80	4,15	1,85
Muskel	1,33	14,00	3,17
Niere	0,28	1,90	0,40
Darm	0,50	4,16	0,82
Lk mes.	0,29	13,10	1,24
Blut	0,95	10,10	2,75

[a] Absolutwerte gebildet aus den jeweiligen Quotienten der Medianwerte ($\tilde{x}$) in Prozent der injizierten Dosis pro 1 % Körpergewicht

4.2.2. Meerschweine mit 14 Tage alten Tumor

In Tab. 7 ist die Organverteilung Tag 14 tumortragender Meerschweine 6 Stunden nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion der nach iv. Injektion der wässrigen ^{57}Co-Bleomycin-Lösung gegenübergestellt.

Im Tumor lagen die gemessenen Aktivitäten nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion wieder signifikant ($2\alpha < 0,01$) höher als nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin Gabe.

Nach iv. Injektion wässrigen ^{57}Co-Bleomycins wurden die niedrigsten Aktivitäten festgestellt. Sie lagen im Bereich von 0,46 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht. Nach it. Applikation von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin wurden Werte um 34,2 %, nach it. ^{57}Co-Bleomycin-Suspensionsgabe Werte um 81,5 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht bestimmt. Die höchsten Werte im Tumor wurden nach it. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin-Emulsion gemessen. Sie lagen bei 355 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht und damit fast 773fach höher als nach iv. Injektion von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung (Tab. 7, Tab. 8).

In den drainierenden Lymphknoten (Ln. axillares) waren die gemessenen Werte nach it. Gabe von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension und O/W-Emulsion signifikant ($2\alpha < 0,01$) gegenüber der iv. Gabe von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin erhöht (Tab. 7).

Die niedrigsten Aktivitäten mit 0,13 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht wurden nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Gabe gemessen.

Nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung betrug die Aktivität 1,5 %, nach it. Suspensionsapplikation 0,8 % und nach it. ^{57}Co-Bleomycin-Emulsions Applikation 30,8 % der injizierten Aktivität pro 1 % Körpergewicht.

Damit wurde im Vergleich zur iv. Gabe bei it. Verabreichung der wässrigen Lösung 11mal mehr, der Suspension 6mal mehr und nach Verabreichung der O/W-Emulsion 240mal mehr ^{57}Co-Bleomycin in den drainierenden Lymphknoten nachgewiesen (Tab. 8).

Die gemessenen Aktivitäten für die übrigen Organe stellten sich nach it. Applikation von ^{57}Co-Bleomycin in wässriger Lösung, Öl-Suspension oder O/W-Emulsion im Vergleich mit der wässrigen iv. Gabe auch für Tag 14 tumortragende Meerschweine uneinheitlich dar.

Nach it. Gabe von wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Lösung wurden im Vergleich zur iv. wässrigen Injektion um das Doppelte erhöhte Werte nur in der Haut gemessen. Die Aktivitäten von kontralateralen Lymphknoten, Muskel, Blut, Herz unterschieden sich nicht signifikant. Die Werte von Thymus, Lunge, Milz, Leber, Niere und Darm waren signifikant ($2\alpha < 0,05$) niedriger als die Werte nach iv. wässriger Applikation.

Nach it. Gabe von ^{57}Co-Bleomycin-Suspension lagen die Aktivitäten von kontralateralen Lymphknoten, Haut, Thymus, Muskel und mesenterialen Lymphknoten signifikant ($2\alpha < 0,01$) über den Aktivitäten der gleichen Organe nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Injektion. Keine signifikanten Unterschiede wurden in Lunge, Leber, Milz, Herz, Darm, Blut und Niere

festgestellt. Niedrigere Aktivitäten als nach iv. Appliation wässrigen ^{57}Co-Bleomycins wurden auch für Tag 14 tumortragende Meerschweine in keinem Organ gemessen.

Nach it. ^{57}Co-Bleomycin-Emulsions-Injektion lagen im Vergleich zur iv. wässrigen Gabe die Werte von Haut, Milz und Leber signifikant ($2\alpha < 0,05$) höher. Die ^{57}Co-Bleomycin-Konzentrationen unterschieden sich nicht signifikant für kontralateralen Lymphknoten, Thymus, Herz, Muskel, Darm, mesenterialen Lymphknoten und Blut. In Lunge und Niere wurde signifikant ($2\alpha < 0,05$) weniger Aktivität im Vergleich mit den gleichen Organen nach iv. wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Gabe gemessen (Tab. 7, Tab. 8).

Tab. 7: Organverteilung von 2,5 mg ^{57}Co-Bleomycin pro kg Körpergewicht in Stamm-2 Meerschweinen mit 14 Tage alten Linie 10-Tumor, 6 Stunden nach Injektion iv. in wässriger Lösung, it. in wässriger Lösung, Suspension und O/W Emulsion.[a]

Organe	i.v. Wässrig	i.t. Wässrig	i.t. Suspension	i.t. Emulsion
Lk ipsi	0,108[b]	1,498	0,802	30,800
	0,113-0,151[c]	0,975-2,940	0,523-1,125	26,700-47,200
Lk contra	0,134	0,082	0,561	0,420
	0,087-0,203	0,005-0,094	0,448-0,572	0,080-0,420
Tumor	0,459	34,239	81,579	355,100
	0,405-0,549	34,030-34,574	76,711-96,829	208,500-440,130
Haut	0,044	0,097	0,672	0,190
	0,044-0,047	0,085-0,115	0,393-0,767	0,170-0,200
Thymus	0,060	0,024	0,098	0,035
	0,036-0,060	0,018-0,028	0,079-0,132	0,032-0,067
Lunge	0,163	0,042	0,183	0,079
	0,145-0,206	0,041-0,052	0,159-0,216	0,077-0,092
Milz	0,083	0,042	0,158	1,990
	0,082-0,092	0,038-0,050	0,136-0,184	0,900-2,000
Leber	0,120	0,075	0,136	0,320
	0,105-0,122	0,066-0,083	0,111-0,160	0,170-0,397
Herz	0,030	0,022	0,065	0,033
	0,027-0,032	0,021-0,033	0,056-0,070	0,029-0,035
Muskel	0,010	0,008	0,045	0,010
	0,008-0,014	0,006-0,022	0,044-0,054	0,005-0,012
Niere	0,852	0,346	0,823	0,472
	0,654-0,909	0,342-0,358	0,721-1,033	0,400-0,590
Darm	0,051	0,027	0,100	0,042
	0,047-0,055	0,025-0,044	0,093-0,130	0,032-0,068
Lk.	0,042	0,030	0,119	0,068
mesenterial	0,032-0,057	0,026-0,033	0,118-0,161	0,036-0,091
Blut	0,033	0,036	0,070	0,028
	0,024-0,037	0,038-0,041	0,067-0,075	0,020-0,028

[a] Fünf Tiere pro Gruppe

[b] Medianwert ($\tilde{x}$) in Prozent der Ausgangsaktivität

[c] 20er (x_{20}) und 80er (x_{80}) Percentile (60 % - Interquantil-bereich)

Tab. 8: Quotienten der ^{57}Co-Bleomycin-Organkonzentrationen (^{57}Co-BLM in O/W-Emulsion it., in wässriger Lösung it. und in Suspension it. im Verhältnis zur wässrigen ^{57}Co-BLM-Lösung iv.) in Stamm-2 Meerschweinen mit 14 Tage altem Linie-10 Tumor

	I.t. wässrig: i.v. wässrig	I.t. Suspension: i.v. wässrig	I.t. Emulsion i.v. wässrig
Lk ipsi	11,70[a]	6,26	240,60
Lk contra	0,60	4,20	3,10
Tumor	74,60	177,70	773,60
Haut	2,20	15,30	4,32
Thymus	0,40	1,60	0,58
Lunge	0,26	1,10	0,48
Milz	0,50	1,90	23,96
Leber	0,63	1,10	2,67
Herz	0,73	2,10	1,10
Muskel	0,80	4,50	1,00
Niere	0,40	0,96	0,55
Darm	0,50	1,96	0,82
Lk mes.	0,70	2,80	1,65
Blut	1,00	2,10	0,85

[a] Absolutwerte gebildet aus den jeweiligen Quotienten der Medianwerte (%) in Prozent der injizierten Dosis pro 1 % Körpergewicht

4.3. Therapieexperimente

In Tab. 9 sind die Ergebnisse der Chemotherapie mit Bleomycin von Linie-10 Tumoren in Stamm-2 Meerschweinen aufgeführt.

Es wurde die Wirkung einer mehrmaligen intratumoralen und intravenösen Chemotherapie mit Bleomycin auf 7 Tage alte intradermal gewachsene Linie-10 Tumoren untersucht.

In Gruppe I konnte mit einer Dosis von 0,5 mg/kg Körpergewicht wässrigen Bleomycins kein Tier (0/5) geheilt werden. In Gruppe II wurden mit einer Dosis von 2,5 mg/kg Körpergewicht wässrigen Bleomycins alle Tiere (5/5) geheilt. In Gruppe III wurde nach intravenöser Applikation von ebenfalls 2,5 mg/kg Körpergewicht wässrigen Bleomycins kein Tier (0/5) geheilt. In Gruppe IV konnte mit 0,5 mg/kg Körpergewicht Bleomycin in Suspension keins der Tiere (0/10) geheilt werden. In Gruppe V wurden 9 von 10 Tieren mit 0,5 mg/kg Körpergewicht von O/W-Bleomycin-Emulsion geheilt; ein Tier verstarb an progredienten Lymphknotenmetastasen.

In der nur mit steriler Kochsalzlösung behandelten Kontrollgruppe VI verstarben alle Tiere (0/5) an progredienten Tumor- und Metastasenwachstum innerhalb eines Zeitraumes von 50-55 Tagen.

Tab. 9: Chemotherapie mit Bleomycin von Linie-10 Tumoren in Stamm-2 Meerschweinen

Versuchsgruppe	I	II	III	IV	V	VI
Bleomycin-Dosis[a]	0,5	2,5	2,5	0,5	0,5	-
Bleomycin-Präparation	wässrig	wässrig	wässrig	Suspension	Emulsion	-
Applikationsart	it.	it.	iv.	it.	it.	-
Zahl tumorfreier Tiere/ Zahl behandelter Tiere	0/5	5/5	0/5	0/10	9/10	0/5

[a] mg/kg 5 Tage pro Woche für 3 Wochen

5. DISKUSSION

Eine chemotherapeutische Behandlung soll neoplastische Zellen in einem gesunden Organismus letal schädigen oder so verändern, daß sie vom immunologischen Abwehrsystem des Organismus vernichtet werden können. Aufgrund der unspezifischen Wirkung von Chemotherapeutika werden bei allen Behandlungsmethoden auch gesunde Zellen angegriffen, so daß durch diese Nebenwirkungen der Therapie eine Grenze gesetzt wird.

Es gilt also im Tumorgewebe eine möglichst hohe Wirkkonzentration von Medikament zu erreichen und über eine möglichst lange Zeit zu halten, trotzdem aber das gesunde Gewebe möglichst wenig zu belasten.

In tierexperimentellen Untersuchungen konnte von BIER et al. (1979) gezeigt werden, daß eine lokale intratumorale Behandlung mit ^{57}Co-Bleomycin in CF 1 - Mäusen diesem Ziel sehr nahe kommt, d. h. daß die Wirkkonzentrationen im Tumor und den drainierenden Lymphknoten erhöht und die Cytostatika-Konzentrationen in gesunden Geweben erniedrigt sind.

Durch die Veränderung der galenischen Verabreichungsform konnte eine weitere Konzentrationserhöhung und längere Verweildauer im Tumorareal erreicht werden (BIER et al., 1980 b).

Ziel dieser Untersuchung war es, in einem syngenen Meerschweintumormodell die Gewebeverteilung und Ausscheidungsdauer nach intratumoraler Verabreichung verschiedener galenischer Zubereitungen von ^{57}Co-Bleomycin mit der systemischen Gabe zu vergleichen, in einem Therapiemodell tumortherapeutische Daten zu erhalten und zu untersuchen, ob die kinetischen Ergebnisse sich in den Heilungsraten des Therapiemodells widerspiegeln würden.

5.1. Ausscheidungsexperimente

Intratumoral verabreichte ^{57}Co-Bleomycin-Präparationen wurden im Vergleich zur intravenös wässrigen Applikation in der Ausscheidungskinetik verglichen.

Neben der in der Literatur in klinisch und tierexperimenteller Hinsicht häufig beschriebenen Bleomycin-Suspension (SUGIMURA et al., 1981; TANAKA et al., 1974) wurde die von BIER et al. (1980) beschriebene Bleomycin O/W-Emulsion verwendet. Desweiteren wurde wässriges Bleomycin intravenös und intratumoral appliziert.

Die höchste Ausscheidungsgeschwindigkeit wird nach den vorliegenden Ergebnissen von der wässrigen ^{57}Co-Bleomycin-Lösung nach intravenöser Bolusgabe erreicht.

Die injizierte Aktivität ist bereits zu 50 % nach drei Stunden eliminiert und liegt nach sechs Stunden bei 10 % des Ausgangswertes. Es fällt auf, daß die Werte der einzelnen Tiere sowohl an Tag 7 als auch an Tag 14 in den ersten Stunden erheblich streuen.

Zu erklären ist die Streuung in den ersten zwei Stunden post injectionem über die individuell unterschiedliche Blasenentleerung der Versuchstiere.

80 % oder mehr der eingebrachten ^{57}Co-Bleomycin-Menge wird über die Nieren ausgeschieden (ALBERTS et al., 1979 b). Diese anfangs schnelle Elimination aus dem Blutkreislauf bedingt eine hohe Konzentration von ^{57}Co-Bleomycin im Urin, so daß die Tiere eine hohe Ganzkörperaktivität aufweisen, obwohl sich das ^{57}Co-Bleomycin inzwischen weder am Wirkort noch im Blutkreislauf aufhält.

Ab der dritten Stunde hat sich jedoch das Entleerungsverhalten der Tiere untereinander angeglichen und die Streubreite der Werte wird kleiner.

Ähnlich schnelle Körperelimination wird bei intratumoral wässrig injizierter Lösung an Tag 7 und Tag 14 altem Tumor beobachtet: die Aktivitäten sind schon nach drei Stunden um die Hälfte der Ausgangsaktivität gesunken, es folgt ein protrahierter Verlauf und nach sechs Stunden sind nur 17 % des Anfangswertes nachzuweisen.

Die Veränderung der Ausscheidungsgeschwindigkeit durch Änderung der Applikationsform wird nach Gabe von ^{57}Co-Bleomycin in einer Suspension deutlicher.

Zwar sind vier Stunden (Tag 7) bzw. drei Stunden (Tag 14) nach Injektion ebenfalls 50 % der injizierten Dosis ausgeschieden, doch ist der Verlauf insgesamt langsamer, so daß am Ende der sechsten Stunde unter 18 % (Tag 7) bzw. 25 % (Tag 14) Restaktivität vorhanden sind.

Am deutlichsten wird die Änderung der Kinetik nach Gabe der Emulsion.

Sechs Stunden nach Injektion ließen sich in 60 % der Tiere (Tag 7 und Tag 14) noch über die Hälfte der Ausgangsaktivität nachweisen.

Damit konnte bewiesen werden, daß sich in Abhängigkeit von verschiedenen intratumoral verabreichten galenischen Zubereitungen des Bleomycins die Verweildauer im Organismus verändern läßt. Gemessen an den Integralen der Konzentrationszeitkurven wird im Vergleich zu intravenös wässriger Verabreichung eine 1,05fache (Tag 7) bzw.1,32fache (Tag 14) Verlängerung bei intratumoraler wässriger Applikation, eine 1,46fache (Tag 7) bzw. 1,45fache (Tag 14) Verlängerung bei Verabreichung von Suspension und eine 2,4fache (Tag 7) bzw. 2,07fache (Tag 14) Verlängerung der Verweildauer bei intratumoraler Applikation von Emulsion erreicht.

Ob die verlängerte Verweildauer auf einer erhöhten Cytostatikakonzentration im Tumorareal oder auf einer Umverteilung in das gesunde Gewebe beruht, sollte im Organverteilungsversuch geprüft werden.

5.2. Organverteilungsexperimente

In der ^{57}Co-Bleomycin-Organverteilungsstudie wurde sechs Stunden nach Injektion der drei verschiedenen Darreichungsformen geprüft, wie die verzögerte Ausscheidung die Belastung der einzelnen Organe im Vergleich zur intravenös wässrigen Gabe beeinflußt.

Im Tumorareal ließ sich im Vergleich zur intravenösen Gabe wässrigen Bleomycin nach lokaler Injektion eine sehr deutlich gesteigerte Aktivität nachweisen. Während sich nach sechs Stunden mit intratumoraler wässriger Applikation an Tag 7 eine 125fache, an Tag 14 eine 74fache und mit intratumoral verabreichter Suspension an Tag 7 eine 131fache, an Tag 14 eine 177fache größere Anreicherung von ^{57}Co-Bleomycin darstellt, wird mit ^{57}Co-Bleomycin-Emulsion eine überproportionale Steigerung um das 789fache an Tag 7 bzw. um das 773fache an Tag 14 erreicht (Tab. 6 und 7).

Für die drainierenden Lymphknoten wurden im Vergleich zur intravenösen Gabe Steigerungen um den Faktor 12 (Tag 7 und Tag 14) bei intratumoraler wässriger Injektion, um den Faktor 38 (Tag 7) bzw. Faktor 6 (Tag 14) bei intratumoraler Gabe von Suspension und um den Faktor 140 (Tag 7) bzw. Faktor 240 (Tag 14) bei intratumoraler Gabe von Emulsion erreicht.

Damit konnte gezeigt werden, daß der verzögerte Ausscheidungsmechanismus und die längere Verweildauer von ^{57}Co-Bleomycin im Organismus durch eine Verteilung zugunsten des injizierten Gewebes und des drainierenden Lymphknotens hervorgerufen wird.

Die zum Teil leicht veränderten Befunde für Tag 7 und für Tag 14 tumortragende Tiere müssen möglicherweise auf das unterschiedliche Tumoralter und die damit tumorbedingte Veränderung des Blut- und Lymphgefäßsystems zurückgeführt werden.

Der hier verwendete Linie-10 Tumor metastasiert fast ausschließlich lymphogen (OHANIAN et al., 1977). 7 Tage post transplantationem weisen histologisch alle Tiere meta-

stasierte Tumorzellen im drainierenden Lymphknoten auf (SMITH et al., 1975). Der durchschnittliche Primärtumordurchmesser liegt nach 7 Tagen Wachstum ohne Therapie bei 9 - 10 mm, nach 14 Tagen bei 11 - 12 mm. Klinisch ist die Schwellung der axillären Lymphknoten aufgrund der Metastasierung ab Tag 14 durch Palpation zu diagnostizieren, der Durchmesser liegt dann bei 5 - 6 mm.

Verschiedene Autoren berichten über veränderte Gefäßversorgung bei humanen Neoplasien und Experimentaltumoren (SCHEUNEMANN, 1966; SCHMIDTSEDER und NOMA, 1977). Bei dem hier verwendeten Tumormodell und der Ausgangstumorgröße muß es daher für wahrscheinlich gehalten werden, daß die lokale Aktivitätssteigerung im Tumor nicht nur auf einem Depoteffekt, sondern auch zu einem geringen Maße an einem verringerten Abtransport durch reduzierte Gefäßversorgung beruht.

Bestätigt werden damit Ergebnisse von TAKAHASHI et al. (1973) an tumortragenden Ratten.

Während die tumorbedingte Blutgefäßversorgung sich positiv auf den Depoteffekt des intratumoral verabreichten ^{57}Co-Bleomycins auswirkt, hat der veränderte Lymphgefäßabfluß einen nachteiligen Effekt auf die Aufnahme von Cytostatika in den Lymphknoten.

Aufgrund der Filter- und Speicherfunktion der Lymphknoten für ölige Substanzen (RÜTTIMANN, 1979) wurde über Veränderung der Galenik versucht, die Resorption zu steigern.

TAKAHASHI et al. (1973) konnte nach intratestikulären Injektionen unterschiedlicher ^{3}H-5FU-Emulsionen gegenüber wässriger intravenöser Gabe in den drainierenden Lymphknoten 2 -

9fache Steigerungen erreichen. HASHIDA et al. (1977a, 1977b) berichtet über ähnliche Aktivitätssteigerungen für die drainierenden Lymphknoten und Injektionsorte bei Verwendung verschiedener wasserlöslicher Substanzen in Wasser-in-Öl- und Wasser-in-Öl-Gelantine-Emulsionen bei tumorfreien Ratten.

Die hier verwendete O/W-Emulsion auf Sojaöl-Basis wird ebenfalls zu einem sehr hohen Prozentsatz über das lymphatische System aufgenommen. Die vorliegenden Ergebnisse im Meerschweinmodell bestätigen die von BIER et al. (1980) geführten Verteilungsversuche. In tumorfreien Mäusen konnten im drainierenden Lymphknoten nach subcutaner Bleomycin-Emulsionsgabe um 11fach höhere ^{57}Co-Bleomycinkonzentrationen als nach wässriger subcutaner Applikation gemessen werden. Gegenüber wässriger intravenöser Injektion wurden sogar Steigerungen um den Faktor 100 erreicht.

Die hier aufgeführten Ergebnisse der Aktivitäten von ^{57}Co-Bleomycin am Injektionsort und im drainierenden Lymphknoten weisen darauf hin, daß die ^{57}Co-Bleomycin-Emulsion für den lokalen Depoteffekt effektiver ist als die ^{57}Co-Bleomycin-Suspension oder die intratumorale wässrige Applikation.

Dennoch muß hervorgehoben werden, daß selbst nach intravenöser Gabe von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin eine Aktivitätssteigerung im Tumorareal verglichen mit einem kontralateral gelegenen Hautareal eintritt (Tab. 4 und 5).

So ist an Tag 7 und Tag 14 sechs Stunden nach intravenöser Gabe von wässrigen Bleomycin eine Aktivitätssteigerung im Tumorgewebe um den Faktor 10 festzustellen, trotz der oben beschriebenen veränderten Vaskularisation. Damit wird dem

^{57}Co-Bleomycin auch eine Affinität zu dem verwendeten Linie-10 Induktionstumor nachgewiesen.

Die tumoraffine Eigenschaft von Bleomycin wurde erstmals von ISHIZUKA et al. (1967) beschrieben, später für Karzinome von UMEZAWA et al. (1973) bestätigt. ALBERTS et al. (1979) beschreibt ^{57}Co-Bleomycin als sehr guten Ganzkörper-Tumormarker.

Die Affinität bleibt jedoch nur auf den Primärtumor beschränkt, für Metastasen in den drainierenden Lymphknoten läßt sich nach intravenöser Gabe von ^{57}Co-Bleomycin keine Affinität nachweisen. Dieser Befund korreliert mit früheren Untersuchungen von BIER et al. (1980b) für die sucutane und intravenöse Anwendung von wässrigen ^{57}Co-Bleomycin in tumorfreien und tumortragenden CF 1 - Mäusen. Nur nach intratumoraler Gabe von ^{57}Co-Bleomycin-Suspension wurden an Tag 7 und Tag 14 nach sechs Stunden leicht erhöhte Werte sowohl im kontralateralen als auch mesenterialen Lymphknoten ermittelt (Tab. 4 und 5).

ABE et al. (1976) kommt bei seinen Versuchen mit Mäusen, Ratten und Hasen nach intramuskulärer Applikation von Bleomycin-Öl-Suspension zu ähnlichen Ergebnissen. Zu erklären ist dies mit der größtenteils lymphogenen Resorption von Sesamöl durch die Affinität der Lymphknoten für ölige Substanzen (RÜTTIMANN, 1979). Bei Injektion von O/W-Emulsion werden die höchsten Werte in den drainierenden Lymphknoten erreicht. Die gemessenen Aktivitäten des kontralateralen und des mesenterialen Lymphknotens sind entweder niedriger oder liegen gleich mit den Werten nach Applikation von ^{57}Co-Bleomycin-Suspension.

Das ^{57}Co-Bleomycin wird aus der O/W-Emulsion sowohl mit der

wässrigen äußeren Phase als auch an die Öltropfen oberflächengebunden resorbiert. Somit liegt zumindest teilweise eine der Suspension ähnliche Kinetik vor, die die ähnlichen Ergebnisse erklärt.

Die Anreicherung der Suspension spiegelt sich auch in den hohen Werten für Lunge, Milz, Leber, Herz, Muskel, Niere, Darm und Blut wieder (Tag 7 und Tag 14), wohingegen für die gleichen Organe die Werte nach intratumoraler Gabe von wässrigen Bleomycin drastisch erniedrigt sind.

Für die Emulsion dagegen bieten sich die gemessenen Werte uneinheitlich dar. Einerseits liegen sie höher (Tumor, drainierender Lymphknoten, Milz: Tag 7 und Tag 14) als nach Gabe von intravenösen ^{57}Co-Bleomycin, liegen gleich (Thymus: Tag 14; Leber, Herz, Muskel, Darm: Tag 7 und Tag 14) oder liegen niedriger (Niere: Tag 7 und Tag 14).

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse müssen zwei unterschiedliche gegenläufige Mechanismen in Betracht gezogen werden: einerseits wird Medikament durch die lokale Depotwirkung am Wirkort gehalten und langsamer freigesetzt, andererseits bedingen die unterschiedlichen galenischen Zubereitungen auch eine veränderte Organkinetik durch veränderte Gewebeaffinität (LASCALLES und MORRIS, 1960; BALLARD, 1968; TANAKA et al., 1974; ABE et al., 1976; BIER et al., 1980b).

In Bezug auf eine geforderte Konzentrationserhöhung am Wirkort und einen möglichst großen lymphogenen Abtransport ließ sich aufgrund der vorliegenden Ergebnisse eine eindeutige Präferenz der Emulsionspräparation geben, wenn sich auch im Vergleich mit anderen Applikationsformen keine deutlich geringere allgemeine Organbelastung ergibt.

5.3. Therapieexperimente

Die therapeutische Bedeutung der Ergebnisse der Ausscheidungs- und Verteilungsstudien sollte im gleichen syngenen Meerschweintumormodell durch eine längere Behandlung mit den verschiedenen galenischen Zubereitungsarten geprüft werden.

Während mit einer Dosierung von 2,5 mg/kg Körpergewicht pro intratumoraler Injektion (Tab. 9, Gruppe II) alle Tiere nach 120 Tagen tumorfrei waren, konnte mit der gleichen Dosierung bei intravenöser Applikation kein Tier geheilt werden (Tab. 9, Gr. III).

Nach Reduzierung der Dosis auf ein Fünftel (0,5 mg/kg Körpergewicht pro Injektion) wurde intratumoral wässrig kein Tier mehr geheilt (Tab. 9, Gruppe I). Mit der gleichen Dosierung, aber intratumoraler Applikation in Öl-Suspension, starben alle Tiere (Tab. 9, Gruppe IV), während 9 von 10 Tieren mit 0,5 mg/kg Körpergewicht Bleomycin-Emulsion-Injektionen geheilt werden konnten (Tab. 9, Gruppe V).

Die Tiere der Kontrollgruppe verstarben ausnahmslos nach 50 - 55 Tagen an progredienten Tumor- und Metastasenwachstum (Tab. 9, Gruppe VI).

Die Therapieergebnisse zeigen deutlich eine Korrelation zu den Ausscheidungs- und Organverteilungsexperimenten.

Zeigte sich für intravenös wässrig verabreichtes ^{57}Co-Bleomycin die schnellste Ausscheidung und die niedrigste Anreicherung im Tumorareal, so reichte im Therapieversuch die lokale Konzentration nicht für eine Tumorheilung aus. Andererseits reichte die gleiche, aber intratumoral in-

jizierte Dosis aus, alle Tiere der Versuchsgruppe zu heilen. Die schlechten Therapieergebnisse nach intravenöser Behandlung werden durch Befunde von BAST et al. (1976), der mit systemischer intraperitonealer Chemotherapie ebenfalls kein Tier heilen konnte, ergänzt.

Damit bestätigte sich der gedankliche Ansatz, daß ein wasserlösliches Zytostatikum wie Bleomycin, das bei intravenöser Applikation fast ausschließlich hämotogen transportiert und verteilt wird, trotz seiner Tumoraffinität sehr hoch dosiert werden muß, um im schlecht vaskularisierten Tumorareal eine therapeutisch ausreichende Konzentration zu erreichen.

Die zweite Hypothese, daß sich über den intratumoralen Depoteffekt geeigneter galenischer Zubereitungen und der damit verbundenen längeren Kontaktzeit zwischen Zytostatikum und Tumorzellen eine Dosisreduktion erreichen läßt, wurde mit den Therapiegruppen IV und V überprüft.

Mit einer auf ein Fünftel der wässrig intratumoral erfolgreichen Dosis reduzierten Bleomycinkonzentration in Öl-Suspension gelang es jedoch nicht, tumortragende Tiere zu heilen, wohl aber mit der gleichen Bleomycinmenge in einer O/W-Emulsion. Aufgrund des schlechten Therapieergebnisses mit Suspension muß daher angenommen werden, daß trotz hoher Anreicherung im Tumorareal und im drainierenden Lymphknoten die Bleomycinfreisetzung aus dem Öl nicht ausreicht, dem Wachstum der Tumorzellen Einhalt zu gebieten.

Die besseren Heilerfolge mit der gleichen Dosis Bleomycin in O/W-Emulsion legen den Schluß nahe, daß durch diese galenische Zubereitungsform eine andere Bleomycin-Kinetik im Tumorareal erreicht wird.

Die Organverteilungsexperimente zeigen einen überproportionalen Depoteffekt im Tumor. Dieser Depoteffekt wurde allerdings auch mit Bleomycin-Öl-Suspension erreicht. In der zweiphasigen Öl/Wasser-Emulsion liegt jedoch das Bleomycin zum größten Teil in der wässrigen Phase vor. Aus den vorliegenden Versuchen läßt sich schließen, daß das Bleomycin aus der Emulsion über die wässrige Phase leichter an die Tumorzellen diffundieren oder über hämatogene Transportmechanismen gelangen kann, als es das in Öl suspendierte Bleomycin könnte.

Die hier durchgeführten Therapieexperimente im Meerschweintumormodell zeigen damit, daß auch bei intratumoraler Behandlung mit einem Cytostatikum durchaus kinetische und therapeutische Unterschiede in Abhängigkeit von verschiedenen galenischen Zubereitungen zu sehen sind. Versuche in Richtung von neuen Verabreichungsformen, die den Tumorgegebenheiten gerecht werden, lohnen sich daher in Hinsicht auf eine klinische Anwendung.

5.4. Schlußbetrachtung

Die Ergebnisse zeigen, daß durch lokale Behandlung eine höhere Wirkkonzentration von Bleomycin am Wirkort (Tumor und drainierender Lymphknoten) erzielt werden kann. Durch geeignete galenische Zubereitung (hier: Emulsion) gelingt es, diese Vorteile weiter auszubauen und mit geringerer Dosis gleiche Heilungsraten zu erzielen.

Dabei ist zu erwarten, daß Nebenwirkungen, die besonders stark bei der intravenösen Therapie in den Vordergrund tre-

ten, geringer sind oder erst später nach längerer Therapiedauer bemerkbar werden.

Sicherlich ist die intratumorale Zytostatikagabe nicht für alle Krebsarten und -stadien geeignet. Andererseits überschreiten maligne Karzinome oft gerade im Kopf-Hals-Bereich schnell anatomische Grenzen durch infiltrierendes Wachstum und setzen dabei zusätzlich lymphogene Metastasen. Der Kliniker muß dann auf eine möglichst effektive und nebenwirkungsarme Chemotherapie zurückgreifen können, um alle Heilungschancen zu nutzen.

Berichte verschiedenster Autoren (PILLAT, 1960; PFISTER, 1971; FETTIG et al., 1971; BIER et al., 1980b; SUGIMURA et al., 1981) ermutigen dazu, die Richtung der intratumoralen Chemotherapie weiterzugehen und in kontrollierten klinischen Studien weitere Erfahrungen zu sammeln.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In einem syngenen Meerschweinmodell mit einem intradermal wachsenden Experimentaltumor wurden Ausscheidungs-, Organverteilungs- und Therapieversuche für ^{57}Co-Bleomycin durchgeführt.

Ziel war es, im Vergleich zur intravenös wässrigen Applikation mit drei verschiedenen intratumoral verabreichten galenischen Zubereitungen möglichst hohe Konzentrationen von Bleomycin im Tumorareal und drainierenden Lymphknoten zu erreichen und im gleichen Modell die therapeutische Relevanz zu prüfen.

Die langsamste Ausscheidung von ^{57}Co-Bleomycin wurde mit einer O/W-Emulsion erreicht, die schnellste Ausscheidung erfolgte nach intravenös wässriger ^{57}Co-Bleomycin-Gabe.

Die Organverteilung ergab die höchsten Werte im Tumor und drainierenden Lymphknoten nach intratumoraler Gabe von Bleomycin-Emulsion, die niedrigsten Werte nach intravenöser Gabe von wässrigen Bleomycin.

Im Therapieversuch konnten mit mehrmaligen intratumoralen Injektionen von wässriger Bleomycinlösung alle Tiere geheilt werden, mit gleicher Dosis und intravenöser Injektion kein Tier.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ALBERTS, D. S., H.-S. G. CHEN, M. MAYERSOHN, D. PERRIER, T. E. MOON, J. F. GROSS:

Bleomycin pharmacokinetics in man
II. Intracavitary administration
Cancer Chemother. Pharmacol. 2, 127-132, 1979a

ALBERTS, D. S., H.-S. G. CHEN, J. F. WOOLFENDEN, T. E. MOON, S. Y. CHANG, J. N. HALL, K. J. HIMMELSTEIN, J. GROSS, S. E. SALMON:

Pharmocoinetics of Bleomycin in man
III. Bleomycin ^{57}Co Vs Bleomycin
Cancer Chemother. Pharmakol. 3, 33-40, 1979b

BALLARD, B. E.:

Lipids and lymphatic drainage
Pharm. Sci. 57, 357, 1968

BAST, R. C., M. SEGERLING, S. H. OHANIAN, S. C. GREENE, B. ZBAR, H. J. RAPP, T. BORSOS:

Regression of established tumor and induction of tumor-immunity by intratumor chemotherapy
J. Nat. Cancer Int. 56, 829-832, 1976

BIER, J., P. BENDERS, K. BITTER:

Ausscheidung und Organverteilung von ^{57}Co-Bleomycin.
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. 3, 151, 1979

BIER, J., S. H. OHANIAN:

Bleomycin-induzierte Tumorzell-Lyse durch Antikörper und Komplement.
Dtsch. Zahnärztl. Z. 35, 102, 1980a

BIER, J., H. BIER, B. LATHAN, T. SIEGEL, S. H. OHANIAN:
Tierexperimentelle Untersuchung zur intratumoralen Chemotherapie mit Bleomycin.
Arch. Otorhinolaryngol. 229, 13, 1980b

BIER, J., LOER, E., J. FRANKE, H. PLATZ:
Tierexperimenelle Untersuchung zur intraarteriellen Chemotherapie mit Bleomycin
Arch. Otorhinolarxgol. (in press)

BROUGHTON, A., J. E. STRONG:
Radioimmunoassay of Bleomycin
Cancer 36, 1418-1421, 1976

CARTER, S. K., G. TOKUJI, G. MATHE, K. UMEZAWA:
Fundamental and clinical studies of Bleomycin
Gunn Monograph on Cancer Res. 19, University of Tokyo Press, 1976

FETTIG, O., M. HILGARTH, H. G. HILLMANNS, J. F. KALTENBACH:
Bleomycin in der Gynäkologie
Fortschr. Med. 89, 1373-1379, 1971

GLASOWSKI, P.:
Intratumorale Bleomycin-Infiltrationstherapie bei Plattenepitheltumoren im HNO-Bereich
Laryng. Rhinol. 56, 543-545, 1977

GROVE, R. B., W. C. ECHKELMAN, R. C. REBA:
Distribution of labeled Bleomycin in normal and tumor-bearing mice.
J. Nucl. Med. 14, 917, 1974

HASHIDA, M., M. EGAWA, S. MURANISHI, H. SEZAKI:
Role of intramuscular administration of water-in-oil emulusions as a method for increasing the delivery of anticancer agents fo regional lymphatics.
J. Pharmacokin. Biopharm. 55, 2225, 1977a

HASHIDA, M., Y. TAKAHASHI, S. MURANISHI, H. SEZAKI:
An application of water-in-oil and gelatin-microsphere-in-oil emulsions to specific delivery of anticancer agent into stomach lymphatics.
J. Pharmacokin, Biopharm. 5, 241, 1977 b

HIGASHI, T., M. KANNO, K. TOMURA:
Comparison of uptake of ^{67}Ga-Citrate and ^{57}Co-Bleomycin in tumor using a semiconductor detector.
J. Nucl. Med. 15, 1167, 1974

HUNTINGTON, M. C., R. W. DUPRIEST, W. S. FLETCHER:
Intraarterial bleomycin therapy in inoperable squamous cell carcinomas.
Cancer 31, 153, 1973

ICHIKAWA, I., A. MATSUDA, K. YAMAMOTO, M. TSUBOSAKE, T. KAIHASA, K. SAKAMOTO, H. UMEZAWA:
Biological studies on bleomycin A.
J. Antibiot., Ser. A. 20, 149, 1967

ISHIZUKA, M., H. TAKAYAN, T. TAKEUCHI:
Activity and toxicity of bleomycin.
J. Antibiot. 22, 15, 1967

KRAKOFF, I. H., E. CVITKOVIC, V. CURRIE, S. YEH, C. LaMONTE:
Clinical pharmacologic and therapeutic studies of Bleomycin given by continous infusion
Cancer 40, 2027, 1977

KUNIMOTO, T., M. HORI, H. UMEZAWA:
Modes of action of phleomycin, bleomycin and formycin on HeLa S 3 cells in synchronized culture.
J. Antibiot., Ser. A. 20, 27, 1967

LASCELLES, A. K., B. MORRIS:
The removal of unesterified fatty acids bound to albumin from the peritoneal cavity of the rat.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 38, 473, 1960

NAGAI, K., H. SUZUKI, N. TANAKA, H. UMEZAWA:
Decrease of melting temperature and single strang scission of DNA by bleomycin in the presence of 2-mercaptoethanol.
J. Antibiot. 22, 569, 1969 a

NAKAMOTO, Y., M. HASHIDA, S. MURANISHI, H. SEZAKI:
Studies on pharmaceutical modification of anticancer agents. II. Enhanced delivery of bleomycin into lymph by emulsions and drying emulsions.
Chem. Pharm. Bull. 23, 3125, 1975 b

NEUMANN, H.-G.:
Entstehung und Behandlung von Tumoren.
Aus: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliographisches Institut, 2. Aufl., 558, 1977

OHNO, R., H. NISHIKAWA, K. KAWASHIMA, T. VETANI, M. HIRANO, M. MIURA, K. YAMADA:
Lack of immunosuppressive effect of bleomycin on the primary response of mice to sheep red blood cells.
Gann 62, 267, 1971

PALADINE, W., T. J. CUNNINGHAM, R. SPONZO, M. DONOVAN, K. OLSON, J. HORTON:
Intracavitary bleomycin in the management of malignant effusion.
Cancer 38, 1903, 1976

PFISTER, R.:
Die antibiotische Behandlung maligner Tumoren der Haut mit Bleomycin - Erste Erfahrungen
Fortschr. Med. 89, 583-589, 1971

PILLAT, A.:
Örtliche Behandlung von Lid-Karzinomen mit Zytostatika.
Wiener Med. Wschr. 48, 975, 1960

REININGER, E. J., L. A. SAPIRSTEIN:
Effect of digestion on distribution of blood flow in the rat.
Science 126, 1176, 1957

ROBBINS, P. J., E. B. SILBERSTEIN, D. C. FORTMAN:
^{111}In-bleomycin kinetics in mice bearing transplantable tumours of lung, skin and bone.
J. Nucl. Med. 15, 273, 1974

SUGIMURA, M., K. HORIBATA, R. SHIBA, H. TANIOKA, K. TAKADA, M. SAKUDA:
Experimental and clinical studies of local application of solid and oil Bleomycin for the treatment of oral cancer
J. max.-fac. Surg. 1, 26, 1981

SUZUKI, H., K. NAGAI, H. YAMAKI, N. TANAKA, H. UMEZAWA:
Mechanism of action of bleomycin. Studies with the growing culture of bacterial and tumor cells.
J. Antibiot., Ser. A. 21, 379, 1968

TAKAHASHI, T., M. MIZUNO, Y. FUJITA, S. UEDA, B. NISHIOKA, S. MAJIMA:
Increased concentration of anticancer agents in regional lymph nodes by fat emulsions, with special reference to chemotherapy of metastasis.
Gann 64, 345, 1973

TAKAHASHI, T., S. UEDA, K. KONO, S. MAJIMA:
Attempt at local administraton of anticancer agents in the form of fat emulsion.
Cancer 38, 1507, 1976

TANAKA, T., H. KOBAYASHI, K. OKUMURA:
Intramuscular absorption of drug from oily solution in the rat.
Chem. Pharm. Bull. 22, 1279, 1974

UMEZAWA, H., K. MAEDA, T. TAKEUCHI, Y. OKAMI:
New antibiotics, bleomycin A and B.
J. Antibiot., Ser. A. 19, 200, 1966

UMEZAWA, H., M. ISHIZUKA, S. HORI, H. CHIMURA, T. TAKEUCHI:
The distribution of ^{3}H-bleomicin in mouse tissue.
J. Antibiot. 21, 638, 1968

UMEZAWA, H., T. TAKEUCHI, S. HORI, T. SAWA, M. ISHIZUKA, T. ICHIKAWA, T. KOMAI:
Studies on the mechanism of anti-tumor effect of bleomycin on squamous cell carcinoma.
J. Antibiot. 26, 417, 1973

UMEZAWA, H.:
Chemistry and mechanism of action of bleomycin.
Fed. Proc. 33, 2296, 1974

YAMAKI, H., N. TANAKA, H. UMEZAWA:
Effects of several tumor-inhibitory antibiotics on immunological response.
J. Antibiot. 22, 315, 1969

YASUNODA, S., H. MIYAKE, M. SAKAI, Y. INUYOMA, J. MATSUKAWA, K. FUJII:
Bleomycin in malignant tumors of head and neck
Kaio. J. Med. 18, 153-158, 1969

ZIMMERMANN, M., T. HALE:
Verteilungsstudie mit ^{57}-Co, ^{51}Cr- ^{111}In- und ^{99m}Tc-Bleomycin in Mäusen mit einem soliden Ehrlich Karzinom.
Nucl. Med. 15, 176, 1976

Danksagung

Die Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit wurden im Universitätsklinikum Steglitz der Freien Universität Berlin in der Abteilung für Kieferchirurgie und Plastische Gesichtschirurgie (Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Stellmach) und im Institut für Nuklearmedizin (Leiter: Prof. Dr. K. Oeff) durchgeführt.

Es ist mir ein großes Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. Dr. J. Bier für die Überlassung des Themas, seine jederzeit gewährte Unterstützung, sowie für die vielseitige Förderung herzlichst zu danken.

Ebenfalls danken möchte ich Frau Heidi Wolynski und Frau Elke Wartenberg für Ihre freundliche Hilfe im Labor, sowie den Tierpflegern der Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde der Freien Universität Berlin für Ihre Unterstützung im Bereich der Tierhaltung.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Herrn Hans Wiederhold für die sorgfältige Reinschrift dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 24. 10. 1956 wurde ich in Bad Langensalza als Sohn des Dipl.-Geologen Prof. Dr.-ing. Gert Michel und seiner Ehefrau Brigitte Michel, geb. Thunich geboren.

Im April 1963 wurde ich eingeschult und legte am 5. 6. 1975 die Reifeprüfung am Gymnasium am Moltkeplatz, Krefeld, ab.

Zum WS 1975/76 begann ich das Studium der Geologie, wechselte zum SS 1976 zum Studium der Pharmazie und begann im SS 1977 das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin.

Während meines Studiums nahm ich 1981/82 an einer Segelregatta um die Welt teil.

Im Praktischen Jahr wurde ich im Universitätskrankenhaus Cochin, Paris, der Université René Descartes in den Gebieten Chirurgie und HNO ausgebildet.

Am 18. 11. 1983 erhielt ich die Approbation.

Seit dem 15. 12. 1983 bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter im Universitätsklinikum Steglitz in der Abteilung für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten (Leiter: Prof. Dr. D. Zühlke).